

ESTUDIO DE PREFORMULACION PARA EL DISEÑO Y DESARROLLO DE UN SISTEMA LIOFILIZADO DE NITROPRUSIATO DE SODIO

Helber de Jesús Barbosa *
Myrian Tello *
Enrique León**

RESUMEN

La investigación presente evaluó el comportamiento del manitol, la glicina y la Povidona como soportes para la liofilización de una solución de nitroprusiato de sodio, fármaco ampliamente usado en centros hospitalarios en casos de emergencias hipertensivas. Se determinó para cada uno de ellos la concentración que presenta el mejor comportamiento en el proceso de liofilización. Utilizando estas concentraciones fue posible obtener información de preformulación que contribuye a evitar la inestabilidad en solución acuosa.

SUMMARY

In the present work the behaviour of mannitol, glycine and povidone as support for the freeze-drying process of a sodium nitroprusside solution was evaluated. These pharmaceutical products largely used as an antihypertensive in hospital emergencies. The concentration of each support that showed the best behaviour was established. By using these concentration it was possible to characterize some properties necessary for preformulation studies of SENF and to prevent the aqueous solution instability.

INTRODUCCIÓN

Para administrar un medicamento al organismo, se hace necesario adicionar uno o mas componentes que se consideran inertes desde el punto de vista químico, farmacológico y toxicológico, los cuales se agregan con el fin de adecuar y estabilizar el fármaco y darle una forma farmacéutica que además de ser estable, cumpla las exigencias impuestas por la vía de administración, estado y necesidad del paciente.

Durante los procesos de diseño y desarrollo de una forma de presentación farmacéutica se realizan

* Universidad Nacional de Colombia,
Facultad de Ciencias,
Departamento de Farmacia
A. A. 14490 Santafé de Bogotá

** Universidad Nacional de Colombia,
Facultad de Ciencias,
Departamento de matemáticas
A. A. 14490 Santafé de Bogotá.

estudios exhaustivos para caracterizar las propiedades fisicoquímicas tanto del fármaco como de los auxiliares de formulación; la influencia de factores tales como pH, aire, luz y temperatura; las variables que participan en el proceso tecnológico durante la producción del medicamento etc. Solo por medio de estos estudios, es posible establecer las propiedades y las condiciones necesarias para garantizar la calidad de la forma de presentación final (1).

El nitroprusiato de sodio, fármaco ampliamente utilizado en el tratamiento de emergencias clínicas en casos de hipertensión arterial, debe su acción farmacológica a la relajación del músculo liso vascular, de arterias periféricas y venas (2, 3, 4). Es una molécula estable en estado sólido, pero se degrada rápidamente cuando esta en solución acuosa (2); por tal razón, se han buscado diferentes mecanismos para su protección bien sea con el empleo de auxiliares de formulación que lo estabilice y / o a través de un proceso tecnológico mediante el cual en un período de tiempo muy corto se transforme el estado de solución del medicamento al estado sólido, con el fin de mejorar y garantizar posteriormente la estabilidad de la forma farmacéutica final.

A partir de una solución acuosa regulada a pH 7.2 de nitroprusiato de sodio, la cual no presentó una degradación significativa en 96 horas (5), se propuso el estudio del comportamiento del nitroprusiato de sodio frente a soportes tales como el manitol, glicina y povidona en diferentes concentraciones y la utilización de un proceso tecnológico como la Liofilización. Mediante este mecanismo se obtuvo un sistema que una vez reconstituido mantuvo su identidad química durante 90 días (6, 7, 8, 9, 10). La información recopilada en esta etapa condujo a plantear una propuesta de preformulación y dar comienzo a estudios preliminares conducentes a establecer y caracterizar propiedades que

posteriormente sirvan para garantizar la estabilidad de una formulación de nitroprusiato de sodio liofilizado.

PARTE EXPERIMENTAL

Selección de auxiliares

Después de realizar ensayos preliminares con varios soportes de uso farmacéutico, fueron seleccionados tres auxiliares de formulación para el proceso de la liofilización, cada uno de ellos en tres concentraciones diferentes Manitol (0.5 %, 1.0 %, 1.5 %), glicerina (5.0 %, 7.5 %, 10.0 %), Povidona (0.6 %, 0.7 %, 0.8 %). Todas las materias primas utilizadas durante el presente trabajo cumplieron con las exigencias impuestas por la farmacopea Americana USP XXII (11).

Preparación de soluciones y Liofilizados

Para obtener la solución de nitroprusiato de sodio que posteriormente se sometió al proceso de liofilización se elaboraron dos soluciones. Solución A, de (50 mg/ml) de nitroprusiato de sodio en buffer de fosfatos de pH 7.2 (5, 12). Solución B de cloruro de sodio al 1% (p/v), la cual fue fraccionada en 9 frascos a cada uno de los cuales, se les adicionó manitol, glicina y Povidona en las tres concentraciones definidas en los ensayos preliminares.

Para la elaboración de los sistemas a analizar se emplearon viales de vidrio tanto incoloro como ámbar de 5 ml, depositándose 1 ml de la solución A y 2 ml de la correspondiente solución B tal como se reporta en la tabla 1. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y replicación.

TABLA 1 Composición Final de los Viales Liofilizados

	Composición final de los Viales								
	Vial No								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Sodio Nitroprusiato	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml	50 mg/ ml
Manitol	0.5 %	1.0%	1.5%						
Glicina				5.0%	7.5%	10.0%			
Povidona							06%	0.7%	0.8%
Sodio cloruro	0.33%	0.33%	0.33%	0.33%	0.33%	0.33%	0.33%	0.33%	0.33%
Buffer p H 7.2	33% v/v	33% v/v	33% v/v	33% v/v	33% v/v	33% v/v	33% v/v	33% v/v	33% v/v
Agua c.p.s.	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml	3 ml

Proceso de liofilización

Para el proceso de liofilización de las muestras en estudio, se utilizó un equipo Virtis bajo las siguientes condiciones. A los viales preparados se le colocaron tapones a la altura adecuada, se cargo la cámara en forma ordenada, se instalaron las termocuplas para el registro gráfico del proceso. Se inició el proceso de congelación hasta alcanzar una temperatura de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se activa la cámara frigorífica hasta alcanzar una temperatura de $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Posteriormente se inició el proceso de sublimación, que se extiende hasta alcanzar la

temperatura ambiente ; luego se encendió la cámara de calor radiante durante dos horas. El proceso finalizó ajustando los tapones y grafando los viales. Debido a la capacidad del liofilizador y a las muestras necesarias para el estudio se elaboraron cinco lotes de 80 viales cada uno. De cada lote liofilizado, se tomaron 8 viales para control de humedad . Los restantes se colocaron en el baño termostato a temperatura de $25 + 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Cada 10 días según esquema preestablecido se retiraron las muestras para el análisis polarográfico correspondiente de acuerdo al método de valoración de la Farmacopea Americana U.S.P. XXI (12).

Método de valoración

Se siguió la norma de la Farmacopea Americana U. S. P XXI (12), bajo las siguientes condiciones : se utilizó el método polarográfico, ajustando primero el polarógrafo a las condiciones adecuadas, como : velocidad del papel, sensibilidad y rango de voltaje (de - 0.1 a - 0.6 voltios). La cámara de muestra del polarógrafo fue desaireada, colocando 10 ml de solución buffer de fosfato pH 7.2 y aplicando nitrógeno de alta pureza durante 4 minutos. Cada vial liofilizado y sometido a las condiciones del estudio se reconstituyó con 5 ml de solución buffer, asegurándose una perfecta redisolución y 1 ml de la solución reconstituida fue colocada dentro de la cámara de muestra ya desaireada. Siguiendo las instrucciones del manual se corrió el polarograma bajo las condiciones establecidas y se obtuvo el registro respectivo para cada una de las muestras en estudio previa validación del método.

Resultados y discusión .

1.- Control de calidad. Los auxiliares de formulación se evaluaron según criterios indicados en la USP XXII (11) y el Nitroprusiato de sodio según criterios de la USP XXI (12)

Los resultados obtenidos demuestran que los componentes se encuentran dentro de los límites permitidos.

2.- Determinación polarográfica del contenido de Nitroprusiato de Sodio : Esta cuantificación se llevó a cabo interpolando en la curva de calibración obtenida con solución patrón como se muestra en la tabla 2, recta evaluada estadísticamente con un α de 0.05.

3.- Aspecto físico. En los resultados del aspecto físico se consideraron las siguientes aspectos que son fundamentales en un producto liofilizado (13). Uniformidad de color, grado de porosidad, dureza del taco, facilidad de redispersión y apariencia . Se cualificaron en una escala arbitraria de 1 a 5, donde 5 se considera la propiedad ideal y 1 la propiedad menos favorable. Se escogió una muestra significativa (15). Dichos resultados se reportan en la tabla 3

Para Analizar si se presentaba o no variación en la concentración del nitroprusiato de sodio se diseñó un seguimiento a través del tiempo, de cero a 90 días con determinaciones cada 10 días y sometidos a las condiciones del estudio, realizando el respectivo análisis estadístico en cada caso (ANAVA), el contenido de humedad residual de los liofilizados y el aspecto físico de los mismos. (14)

TABLA 2 : Curva de Calibración Polarográfica del Nitroprusiato de Sodio			
Con. Nitroprusiato mg / ml	Voltaje mA / mm (altura polarograma x 0.05)		
	1	2	3
0.0	0.0000	0.0000	0.0000
4.0	0.6500	0.6500	0.6250
8.0	1.2375	1.2625	1.1875
12.0	1.7250	1.7625	1.6875
16.0	2.2125	2.2875	2.1500
20.0	2.6125	2.7250	2.8750
Coeficiente de correlación 0.9967, pendiente 0.01319, intercepto 0.009276			

TABLA 3 : Aspecto Físico de los Liofilizados

	Manitol			Glicina			Povidona		
	0.5%	1.0%	1.5%	5.0%	7.5%	10%	0.6%	0.7%	0.8%
Uniformidad de color	5	5	5	4	5	5	5	5	5
Porosidad	4	5	5	3	5	5	4	4	4
Dureza del taco	1	2	4	2	5	5	3	3	3
Disolución	5	5	5	5	5	5	3	3	2
Apariencia	5	5	5	5	5	5	5	4	4

3.- Valores de humedad residual . En la tabla 4 se reportan los valores de las humedades residuales determinadas por el método de Karl Fischer para cada lote elaborado.

TABLA 4 . Porcentajes de Humedad Residual

	Concentración Manitol			Concentración Glicina			Concentración Povidona		
	0.5 %	1.0 %	1.5 %	5.0 %	7.5%	10 %	0.6 %	0.7 %	0.8 %
Lote 1	4.23	4.30	4.35	1.31	2.22	2.44	2.39	2.64	3.03
Lote 2	4.04	4.06	3.76	2.23	2.01	1.38	3.51	3.24	3.22
Lote 3	3.92	4.32	4.55	1.67	1.69	1.51	4.43	4.29	3.78
Lote 4	3.58	3.86	3.62	2.35	1.95	1.52	3.43	3.52	3.78
Lote 5	1.96	2.09	2.43	1.29	1.19	0.92	3.39	2.45	2.40

Manitol

El contenido de nitroprusiato de sodio en todos los casos se encuentra dentro de los límites del 90 y 110 % exigidos por la farmacopea, cuando se emplea como soporte manitol en sus distintas concentraciones y bajo las condiciones del estudio, como se observa en la figura 1. Esto indica que el manitol no presentó ninguna interferencia física o química con el fármaco durante el proceso de elaboración, cuando se encuentra en estado de solución o en estado sólido como liofilizado y sometido a las condiciones del estudio durante 90 días. El caracterizar esta propiedad permite recomendar al manitol dentro de los porcentajes utilizados como un posible auxiliar de formulación, no solo facilitando el manejo tecnológico sino contribuyendo posiblemente a garantizar la estabilidad de la molécula de nitroprusiato de sodio cuando se presenta en forma de liofilizado. Sin embargo es necesario considerar los altos porcentajes de humedad residual obtenida entre el 2.0 y 4.5 % que sobrepasan los recomendados para un liofilizado ideal que es del 1 % (9), aunque según los resultados de la valoración muestran que el fármaco se encuentra dentro

de los límites permitidos a pesar de la presencia de humedad residual durante los 90 días. Otro aspecto a considerar y que puede influir sobre la concentración del nitroprusiato es el color de vidrio. En el presente estudio se observó la influencia de las clases de vidrio; incoloro y ámbar, las variaciones encontradas no presentan diferencias estadísticamente significativas sobre la concentración del fármaco, como se observa en la figura 2 que es tomada como ejemplo para un caso específico con respecto al manitol en porcentaje del 1.0 %, pero que se cumple para los demás porcentajes. Sin embargo el vidrio ámbar sería recomendado por evitar en mayor grado el paso de luz y así proteger en parte la integridad de la molécula, como también al producto liofilizado. A pesar que el soporte utilizado en este caso, la protección ejercida por el vidrio y la humedad residual encontrada en las diferentes muestras analizadas no influyeron sobre la concentración de la molécula, ciertas propiedades físicas como uniformidad de color, grado de porosidad y dureza del taco afectan la aceptación del producto, ya que estas últimas no fueron las más adecuadas y por lo tanto el producto liofilizado no cumplen con la calidad esperada. (14).

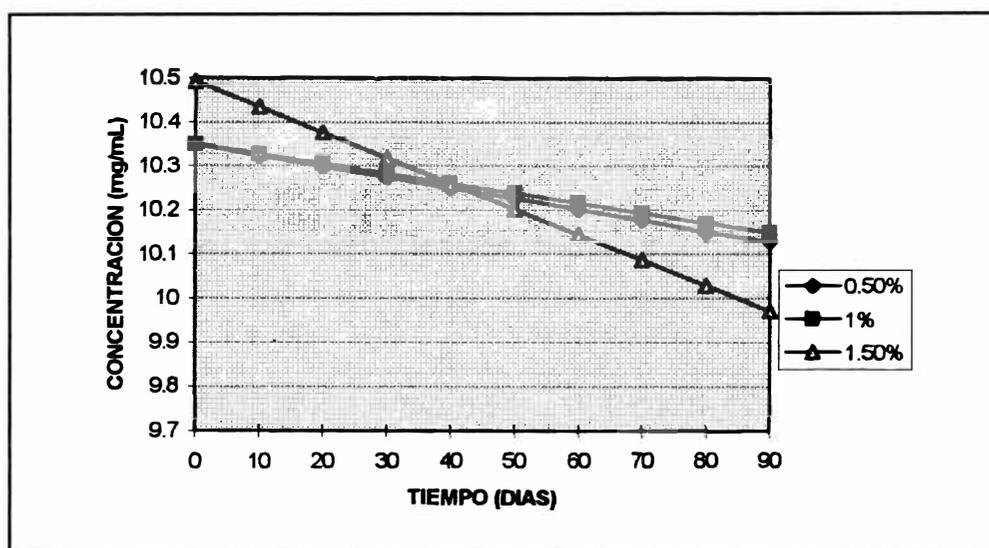


Figura 1. Efectos del Manitol sobre la concentración del Nitroprusiato de sodio en función del tiempo

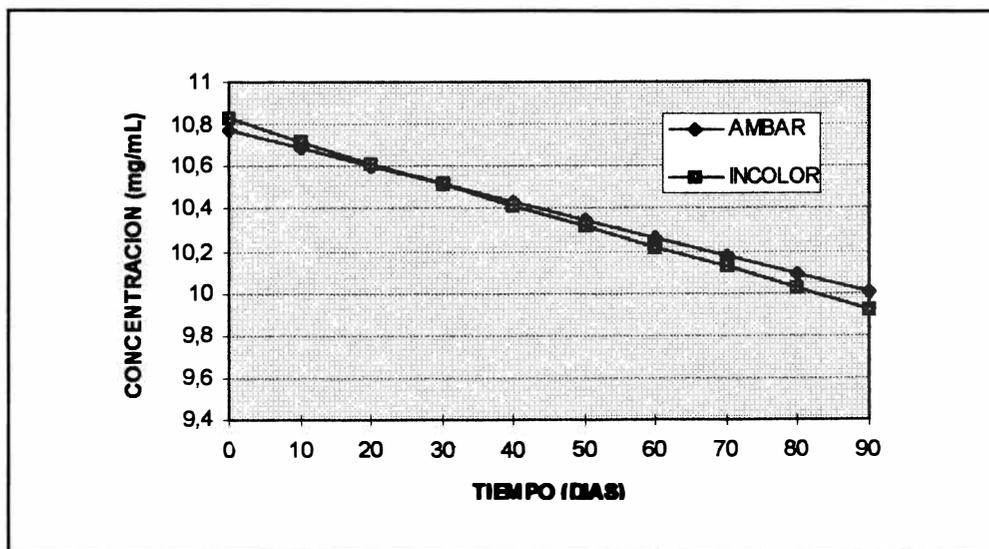


Figura 2. Efectos del Vidrio sobre la concentración de Nitroprusiato de Sodio para porcentaje del 1% de Manitol

Glicina

Los resultados de la valoración del nitroprusiato de sodio, cuando se utiliza glicina como soporte de liofilización en los tres diferentes porcentajes, no presentaron variaciones estadísticamente significativas durante los 90 días bajo las condiciones del estudio con respecto a la concentración inicial, como se observa en la figura 3. Sin embargo no es el único factor decisivo a tener en cuenta del producto liofilizado. Dada la importancia de caracterizar propiedades y obtener un preparado de excelente apariencia, el contenido de humedad residual en los liofilizados es uno de los parámetros de mayor importancia dentro del estudio, ya que puede influir sobre la estructura de la molécula causando una degradación en función del tiempo. Los

liofilizados preparados con este soporte, presentaron el menor contenido de humedad residual, con respecto a los demás soportes utilizados. Siendo en este caso un contenido de humedad que no afecta la presentación, calidad y estabilidad del producto. Adicionalmente, la clase de vidrio no presentó influencia sobre la concentración del fármaco. Pese a esto el vidrio ámbar por la razón dada anteriormente y como lo demuestra la gráfica 2, presenta una ventaja sobre el vidrio incoloro, sirviendo como criterio de selección para garantizar con mayor certeza la integridad de la molécula. Además las características físicas encontradas en los diferentes liofilizados con este soporte en porcentajes del 7 y 10 % fueron óptimas, por presentar uniformidad de color, adecuada porosidad, una buena dureza del taco y apariencia del producto liofilizado (14).

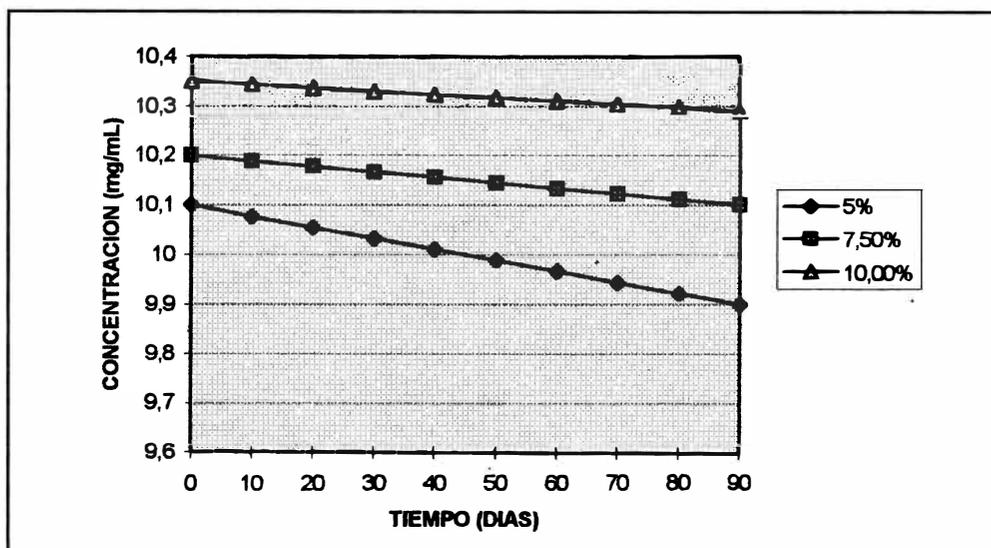


Figura 3. Efecto del soporte glicina sobre la concentración de Nitroprusiato de Sodio

Povidona

La povidona como soporte de liofilización para el nitroprusiato de sodio, de acuerdo con los resultados obtenidos, como se muestra en la gráfica 4 es el auxiliar de formulación que en sus diferentes porcentajes presenta aparentemente una mayor influencia sobre la molécula, al obtenerse concentraciones que están por fuera del límite inferior de acuerdo a lo estipulado en la farmacopea americana USP XXII. Es posible que dicho efecto se deba a que de alguna manera se está presentando una asociación entre las dos moléculas Povidona - nitroprusiato de sodio. Sin embargo, posiblemente dicha interacción no provoque degradación del fármaco, sino una asociación que impide que el nitroprusiato quede libre para ser valorado. La povidona es un polímero con grupos pirrolidónicos y una disposición de estos para que el nitroprusiato de sodio se ligue, como lo hace el complejo Povidona-Iodo, desconociéndose en este caso la intensidad de la ligación. El hecho de que a tiempo cero ya se presente una disminución en la concentración de la molécula de nitroprusiato de sodio y una gran dispersión de los datos para los diferentes porcentajes utilizados, nos muestra la necesidad de profundizar sobre

el grado e intensidad de la asociación entre el auxiliar de formulación povidona y el fármaco nitroprusiato de sodio. Pese a no obtener resultados satisfactorios con respecto a la concentración dentro de los límites permitidos por la farmacopea, el análisis de las características físicas del liofilizado muestra la povidona como un buen auxiliar de formulación. Además de presentar contenidos de humedad residual aceptables, aunque no los mejores con respecto a los otros auxiliares utilizados.

Después de analizar los soportes de liofilización para el nitroprusiato de sodio en los diferentes porcentajes, la povidona fue el único que presentó influencia sobre la concentración del fármaco a través de los 90 días y condiciones de estudio. La glicina y el manitol mantuvieron la concentración del principio activo dentro de los límites establecidos. Sin embargo la glicina en porcentajes del 7 y 10 % presentó el mejor comportamiento frente a las características físicas y el contenido de humedad residual y por tanto será el auxiliares de formulación escogido en forma primaria para un posterior estudio de estabilidad (14)

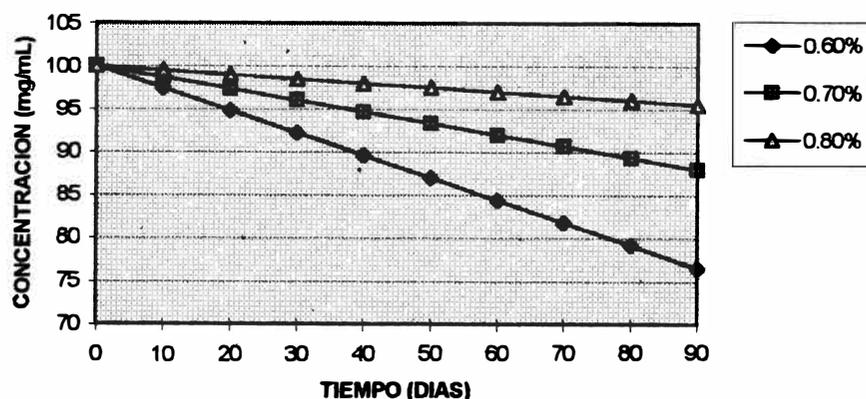


Figura 4. Efecto del soporte P.V.P. sobre la concentración de Nitroprusiato de Sodio

Bibliografía

- 1.- G. Banker, C. Rhodes Modern Pharmaceutics, 2^a Edición, Marcel Dekker Inc., New York. 1990 P. 12-22
- 2.- Martindale The Extrapharmacopoeia, Twenty-eighth Ed; E. F. Reynold edi., The Pharmaceutical press, London, 1982, p. 166-69
- 3.- Physician's Desk Reference Medical Economics Company Inc, 45 Ed; United States of América, 1992 p. 1800-801
- 4.- L. Goodman, A. Gilman, "Las bases farmacológicas de la terapéutica", Editorial Médica Panamericana, octava edición, México D. F. 1991, p. 100-190
- 5.- J. Torres, R. Torres. Estudios preliminares para el diseño de una solución inyectable de Nitroprusiato de sodio, Tesis Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1989.
- 6.- C. Jeannin A. Mangeot, "Ingeniería Farmacéutica" Editorial el Manual Moderno, México D.F. 1986, p. 368-410
- 7.- A. Amoignon, H. Floc, Principios generales de la liofilización. Barcelona 1984
- 8.- M. Groves, W. Olson, M. Anisfeld, "Sterile Pharmaceutical manufacturing". Editorial Advisory Board USA, 1991 Vol. 1 p. 79-107
- 9.- B. Couriel, "Advances in lyophilization technology" Bulletin of the parenteral drugs Association, 31 (5), p. 227-35, 1977
- 10.- M. J. Pikal, S. Shah D. Senior. Physical chemistry of freezy-drying measurement of sublimation rates for frozen aqueous solutions by microbalance technique, J. Pharm. Sci 72 (6), 335-50, 1983
- 11.- The United States Pharmacopoeia XXII. convention United States Pharmacopoeia Inc., Rockville, MD, 1990.
- 12.- The United States Pharmacopoeia XXI. convention United States Pharmacopoeia Inc, Rockville MD, 1985.
- 13.- L. Blecher L.W. Burnette. Parenteral uses of polyvinylpyrrolidone. Bulletin of parenteral drug association 23, (2), p.68-73, 1973
- 14.- C.E. Morales, A. J. Guarín. Estudio de preformulación para el diseño de un liofilizado de nitroprusiato de sodio. Tesis de grado, Universidad Nacional de Colombia Santafé de Bogotá, 1995.
- 15.- Tablas de muestreo para aceptación Military Standar 405-D por atributos.